·论著·

长链非编码 RNA NEAT1、miRNA-182-5p 与 2 型糖尿病患者肝纤维化风险的相关性研究

贺佳[1]，李永平[2]，魏枫[1*]，刘美岚[1]，吴亚玲[1]，韶龙格[1]

【摘要】 **背景** 随着慢性代谢性疾病的发病率逐年上涨，已威胁全民健康，目前非编码 RNA 与内分泌代谢相关疾病的研究已成为国内外研究热点，其中长链非编码 RNA 核富集丰富转录物 1（lncRNA NEAT1）及微小 RNA（miRNA）-182-5p 在 2 型糖尿病（T2DM）合并代谢相关脂肪性肝病（MAFLD）中的研究鲜有报道。**目的** 探讨 T2DM 合并 MAFLD 患者 lncRNA NEAT1、miRNA-182-5p 在肝纤维化发生发展中的机制及临床意义。**方法** 纳入 2021 年 10 月—2022 年 6 月在内蒙古科技大学包头医学院第一附属医院内分泌科就诊的 T2DM 患者 236 例为研究对象，同时纳入 49 名健康人群为健康对照组。收集研究对象一般资料与实验室检测结果。测定内脏脂肪面积（VFA）、皮下脂肪面积（SFA）。采集研究对象外周血，测定 lncRNA NEAT1、miRNA-182-5p。将 T2DM 患者其分为 T2DM 合并非 MAFLD 组（n=82）与 T2DM 合并 MAFLD 组（n=154）。进一步根据肝纤维化指数（FIB-4）将 T2DM 合并 MAFLD 组分为肝纤维化低危亚组（n=55），肝纤维化中危亚组（n=69），肝纤维化高危亚组（n=30）。此外选择健康人群体检作为对照组（n=49）。用 Sperman 秩相关分析探究肝纤维化高危亚组 lncRNA NEAT1、miRNA-182-5p 表达水平的相关性，采用多因素有序 Logistic 回归分析探究肝纤维化风险的影响因素。**结果** 健康对照组年龄、颈围（NC）、空腹血糖（FPG）、糖化血红蛋白（HbA_{1c}）低于 T2DM 合并 MAFLD 组、T2DM 不合并 MAFLD 组，白蛋白（Alb）高于 T2DM 合并 MAFLD 组、T2DM 不合并 MAFLD 组，差异有统计学意义（P<0.05）；T2DM 合并 MAFLD 组 BMI、腰围（WC）、VFA、SFA、稳态模型评估胰岛素抵抗指数（HOMA-IR）、三酰甘油（TG）、血尿酸（SUA）、lncRNA NEAT1 高于健康对照组、T2DM 不合并 MAFLD 组，血小板计数（PLT）低于健康对照组、T2DM 不合并 MAFLD 组，总胆固醇（TC）低于健康对照组，差异有统计学意义（P<0.05）；T2DM 不合并 MAFLD 组 HOMA-IR、lncRNA NEAT1 高于健康对照组，miRNA-182-5p 高于健康对照组、T2DM 合并 MAFLD 组，丙氨酸氨基转移酶（ALT）、天冬氨酸基转移酶（AST）低于健康对照组、T2DM 合并 MAFLD 组，差异有统计学意义（P<0.05）。肝纤维化低危亚组 VFA、SFA、AST、lncRNA NEAT1 低于肝纤维化中危亚组、肝纤维化高危亚组，PLT、miRNA-182-5p 高于肝纤维化中危亚组、肝纤维化高危亚组，BMI、WC、NC 低于肝纤维化高危亚组，TC 高于肝纤维化高危亚组，差异有统计学意义（P<0.05）；肝纤维化中危亚组 PLT、miRNA-182-5p 高于肝纤维化高危亚组，AST、lncRNA NEAT1 低于肝纤维化高危亚组，差异有统计学意义（P<0.05）。Spearman 秩相关分析结果显示，肝纤维化高危亚组患者 lncRNA NEAT1 与 miRNA-182-5p 呈明显负相关（r_s=-0.438，P<0.05）。多因素有序 Logistic 回归分析结果显示，lncRNA NEAT1〔OR=1.326，95%CI（1.087，1.616）〕、VFA〔OR=1.019，95%CI（1.006，1.033）〕、miRNA-182-5p〔OR=0.083，95%CI（0.027，0.257）〕、PLT〔OR=0.956，95%CI（0.942，0.970）〕、AST〔OR=1.048，95%CI（1.022，1.075）〕是 T2DM 合并 MAFLD 患者肝纤维化风险的影响因素。**结论** 外周血 lncRNA NEAT1、miRNA-182-5p 与 T2DM 合并 MAFLD 患者并发肝纤维化密切相关，为该病的早期预测及诊治提供了新的依据。

【关键词】 2 型糖尿病；代谢相关脂肪性肝病；核富集丰富转录物 1；微小 RNA-182-5p；肝纤维化；影响因素分析

【中图分类号】 R 587.1 R 575.2 【文献标识码】 A DOI：10.12114/j.issn.1007-9572.2023.0368

【引用本文】 贺佳，李永平，魏枫，等. 长链非编码 RNA NEAT1、miRNA-182-5p 与 2 型糖尿病患者肝纤维化风险的相关性研究［J］. 中国全科医学，2023.［Epub ahead of print］. DOI：10.12114/j.issn.1007-9572.2023.0368.［www.chinagp.net］

基金项目：内蒙古自治区自然科学基金资助项目（2022MS08041）；内蒙古自治区卫生健康科技计划项目（202202235）；内蒙古草原英才计划；2022 年度包头医学院创新团队发展计划项目

1.014010 内蒙古自治区包头市，内蒙古科技大学包头医学院第一附属医院
2.014010 内蒙古自治区包头市卫生健康委员会综合保障中心
贺佳与李永平为共同第一作者
[*]通信作者：魏枫，主任医师 / 教授；E-mail：1135172562@qq.com

本文数字出版日期：

HE J，LI Y P，WEI F，et al. Correlation of LncRNA NEAT1 and miRNA-182-5p with the risk of liver fibrosis in patients with type 2 diabetes mellitus［J］. Chinese General Practice，2023.［Epub ahead of print］.

Correlation of LncRNA NEAT1 and miRNA-182-5p with the Risk of Liver Fibrosis in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus

HE Jia[1]，*LI Yongping*[2]，*WEI Feng*[1*]，*LIU Meilan*[1]，*WU Yaling*[1]，*SHAO Longge*[1]

1.The First Affiliated Hospital of Baotou Medical College，Inner Mongolia University of Science and Technology，Baotou 014010，China

2.Comprehensive Support Center，Baotou Health Commission，Baotou 014010，China

[*]Corresponding author：WEI Feng，Chief physician/Professor；E-mail：1135172562@qq.com

HE Jia and LI Yongping are co-first authors

【Abstract】 Background With the incidence of chronic metabolic diseases rising by year， which has threatened the national health，the study of non-coding RNA and endocrine metabolism-related diseases has become a research hotspot at home and abroad，while lncRNA NEAT1 and miRNA-185-5p in type 2 diabetes mellitus（T2DM）combined with metabolic-related fatty liver disease（MAFLD）has been rarely reported. Objective To investigate the mechanism and clinical significance of lncRNA NEAT1 and miRNA-182-5p in the development of liver fibrosis in T2DM patients with MAFLD. Methods A total of 236 T2DM patients admitted to the endocrinology department of the First Affiliated Hospital of Baotou Medical College，Inner Mongolia University of Science and Technology from October 2021 to June 2022 were included as the study subjects，and 49 healthy people were included as the healthy control group. General information and laboratory test results of the subjects were collected. Visceral fat area（VFA）and subcutaneous fat area（SFA）were measured. Peripheral blood was collected and lncRNA NEAT1，miRNA-182-5p were determined. T2DM patients were divided into the T2DM with non-MAFLD group（n=82）and T2DM with MAFLD group（n=154）. T2DM with MAFLD group was further divided into the low-risk subgroup（n=55），medium-risk subgroup（n=69）and high-risk subgroup（n=30） according to the liver fibrosis index（FIB-4）. In addition，healthy people were selected as the healthy control group（n=49）. Sperman rank correlation analysis was used to explore the correlation of lncRNA NEAT1 and miRNA-182-5p expression levels in the high-risk subgroup of liver fibrosis，and multilevel ordinal logistic regression was used to explore the influencing factors of liver fibrosis risk. Result Age，neck circumference（NC），fasting blood glucose（FPG）and glycosylated hemoglobin（HbA_{1c}）in the healthy control group were lower than those in the T2DM with non-MAFLD and T2DM with MAFLD groups，the albumin（Alb）in the healthy control group was higher than that in the T2DM with non-MAFLD and T2DM with MAFLD groups， the difference was statistically significant （P<0.05）. BMI，waist circumference（WC），VFA，SFA，homeostatic model assessment for insulin resistance（HOMA-IR），triglyceride（TG）， serum uric acid（SUA）and lncRNA NEAT1 in the T2DM with MAFLD group were higher than those in the healthy control group and T2DM with non-MAFLD group， platelet count（PLT）was lower than that of the healthy control group and T2DM with non-MAFLD group，total cholesterol（TC）was lower than that of the healthy control group，the difference was statistically significant（P<0.05）. HOMA-IR and lncRNA NEAT1 in the T2DM with non-MAFLD groups were higher than those in the healthy control group，miRNA-182-5p was higher than that in the healthy control group and T2DM with MAFLD group，alanine aminotransferase（ALT）and aspartate transferase（AST）were lower than those in the healthy control group and T2DM with MAFLD group，and the difference was statistically significant（P<0.05）. VFA，SFA，AST and lncRNA NEAT1 in the low-risk subgroup were lower than those in the medium-risk subgroup and high-risk subgroup，PLT and miRNA-182-5p were higher than those in the medium-risk subgroup and high-risk subgroup，BMI，WC and NC were lower than those in the high-risk subgroup，TC was higher than that in the high-risk group of liver fibrosis，the difference was statistically significant（P<0.05）. PLT and miRNA-182-5p in the medium-risk subgroup were higher than the high-risk subgroup，AST and lncRNA NEAT1 were lower than those in the high risk group，and the difference was statistically significant（P<0.05）. Spearman rank correlation analysis showed that lncRNA NEAT1 was significantly negatively correlated with miRNA-182-5p in the high-risk subgroup of liver fibrosis（r_s=-0.438，P<0.05）. The results of multilevel ordinal logistic regression analysis showed that lncRNA NEAT1〔OR=1.326，95%CI（1.087，1.616）〕，VFA〔OR=1.019，95%CI（1.006，1.033）〕，miRNA-182-5p〔OR=0.083，95%CI（0.027，0.257）〕，PLT〔OR=0.956，95%CI（0.942，0.970）〕，AST〔OR=1.048，95%CI（1.022，1.075）〕were the risk factors of liver fibrosis in T2DM patients with MAFLD. Conclusion Peripheral blood lncRNA NEAT1 and miRNA-182-5p are closely related to the complicated liver fibrosis in T2DM patients with MAFLD，providing a new basis for the early prediction， diagnosis and treatment of the disease.

【Key words】 Type 2 diabetes mellitus；Metabolic-related fatty liver disease；NEAT1；miRNA-182-5p；Hepatic

fibrosis；Root cause analysis

2 型糖尿病（T2DM）是常见的慢性代谢性疾病，其发病机制复杂多样，可归结为胰岛素抵抗（insulin resistance，IR）及胰岛功能衰竭[1]，两者共同影响糖尿病发展的全过程。流行病学调查研究显示，预计到 2030 年全球糖尿病患病人数将达到 6.43 亿（11.3%），2045 年将增至 7.84 亿（12.2%）[2]。T2DM 常合并代谢相关脂肪性肝病（MAFLD），MAFLD 由非酒精性脂肪肝（NAFLD）更名而来，2020 年 22 个国际专家小组认为 MAFLD 相较于 NAFLD 更加适合描述与内分泌代谢功能障碍相关的肝脏疾病[3]。约 55.5%T2DM 患者合并 MAFLD，且发生纤维化的概率为 17.0%[4]，两者共存不仅增加了肝硬化和肝细胞癌的发生，同时也增加了糖尿病肾病及心脑血管系统并发症的风险，严重威胁人类健康。

T2DM 合并 MAFLD 的发病机制错综复杂，近年来非编码 RNA 成为这一研究热点。其中长链非编码 RNA- 核富集转录本 1（long non-coding RNA-nuclear enriched abundant transcript 1，lncRNA NEAT1）异常表达与胚胎发育、细胞增殖分化、脂肪变性、氧化应激、内质网应激等生理病理进程密切相关[5]。有研究显示，lncRNA NEAT1 可参与胰岛素的合成、分泌及敏感性的调控[6]。

微小 RNA（microRNA，miRNA）也是非编码 RNA 的一种，其中 miRNA-182-5p 目前已被证明在 T2DM 及其并发症的调节途径中发挥作用，并可通过调控不同信号通路来调节 IR[7]。目前 lncRNA NEAT1 与 miRNA-182-5p 在 T2DM 合并 MAFLD 的研究中较少，本研究通过比较不同患者外周血中 lncRNA NEAT1、miRNA-182-5p 的表达情况，分析其与肝纤维化的相关性，为临床早期诊断及疾病防治提供新的方向。

1 对象与方法

1.1 研究对象 纳入 2021 年 10 月—2022 年 6 月在内蒙古科技大学包头医学院第一附属医院内分泌科就诊并入组国家标准化代谢性疾病管理中心（MMC）的 T2DM 患者 236 例为研究对象，同时纳入在内蒙古科技大学包头医学院第一附属医院体检的 49 名健康人群为健康对照组。纳入标准：（1）T2DM 患者诊断依据《中国 2 型糖尿病防治指南（2020 年版）》[8-9]；（2）MAFLD 患者诊断依据《代谢功能障碍相关脂肪肝的新定义：国际专家共识声明》[3]；（3）18~80 周岁。排除标准：（1）其他类型糖尿病及糖尿病急性并发症患者；（2）感染性疾病、免疫性疾病及肿瘤患者；（3）严重肝、肾功能不全患者；（4）近期服用影响肝功能药物的患者。已通过包头医学院第一附属医院医学伦理委员会审批（审批号：2023011），入组患者均签署知情同意书。

1.2 研究方法

1.2.1 一般资料收集 记录入组患者的年龄、性别、T2DM 病程，吸烟（定义为吸烟≥ 1 支 /d，连续吸烟 >1 年[10]）、饮酒〔定义为平均饮白酒（酒精含量 >50%）≥ 100 mL/d，持续 1 年以上[10]〕等指标。测量身高、体质量、颈围（NC）、腰围（WC），计算 BMI。

1.2.2 实验室指标检测 所有入组患者均测定血小板计数（PLT）、空腹血糖（FPG）、糖化血红蛋白（HbA_{1c}）、丙氨酸氨基转移酶（ALT）、天冬氨酸基转移酶（AST）、白蛋白（Alb）、三酰甘油（TG）、总胆固醇（TC）、血尿酸（SUA）、空腹 C 肽，计算改良稳态模型评估胰岛素抵抗指数（HOMA-IR），HOMA-IR=1.5+FPG（mmol/L）× 空腹 C 肽（pmol/L）/2 800。

1.2.3 内脏脂肪面积（VFA）、皮下脂肪面积（SFA）的测定 采用生物电阻抗法（欧姆龙 DUALSCANHDS-2000）测量 VFA、SFA，单位以 cm^2 表示。

1.2.4 lncRNA NEAT1、miRNA-182-5p 的测定 采集研究对象外周血 2mL，首先用人淋巴细胞分离液提取单核细胞，后采用 Trizol 法提取总 RNA，采用实时荧光定量 PCR（qRT-PCR）法检测 lncRNA NEAT1、miRNA-182-5p 相对表达量，lncRNA NEAT1 以甘油醛 -3- 磷酸脱氢酶（GAPDH）作为内参，依照试剂盒（天根生化科技有限公司，货号：FP402-02）说明书进行检测，miRNA-182-5p 以 U6 作为内参，依照试剂盒（诺唯赞，货号：MQ101-02）说明书进行检测。引物由生工生物工程（上海）股份有限公司合成，序列见表 1。

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequences

引物名称	引物序列（5′→3′）
lncRNA NEAT1-F	CTTCCTCCCTTTAACTTATCCATTCAC
lncRNA NEAT1-R	CTCTTCCTCCACCATTACCAACAATAC
miRNA-182-5p-F	GCGTTTGGCAATGGTAGAACT
miRNA-182-5p-R	AGTGCAGGGTCCGAGGTATT
茎环	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGC ACTGGATACGACAGTGTG
GAPDH-F	CTGACTTCAACAGCGACACC
GAPDH-R	TAGCCAAATTCGTTGTCATACC
U6-F	CTCGCTTCGGCAGCACA3
U6-R	AACGCTTCACGAATTTGCGT

注：lncRNA NEAT1= 长链非编码 RNA- 核富集转录本 1，GAPDH= 甘油醛 -3- 磷酸脱氢酶。

1.2.5 分组 将T2DM患者依据《代谢功能障碍相关脂肪肝的新定义：国际专家共识声明》[3]分为T2DM合并非MAFLD组（n=82）与T2DM合并MAFLD组（n=154）。进一步根据肝纤维化指数（FIB-4）：FIB-4=（年龄×AST）/（PLT×ALT1/2）[11]，将T2DM合并MAFLD组分为肝纤维化低危亚组（FIB-4<1.30或年龄≥65岁、FIB-4<2.0，n=55），肝纤维化中危亚组（1.30≤FIB-4≤2.67或年龄≥65岁、2.00≤FIB-4≤2.67，n=69），肝纤维化高危亚组（FIB-4>2.67，n=30）。此外选择健康人群体检作为对照组（n=49）。

1.3 统计学方法 采用SPSS 26.0统计学软件进行数据分析。采用Kolmogorov-Smirnov检验分析数据是否符合正态分布，符合正态分布的计量资料采用（$\bar{x}\pm s$）表示，多组间比较采用单因素方差分析，组间两两比较采用LSD-t检验；不符合正态分布的计量资料以M（P_{25}，P_{75}）表示，多组间比较用Kruskal-Wallis H检验，组间两两比较采用Mann-Whitney U检验。计数资料以相对数表示，组间比较采用χ^2检验。采用Sperman秩相关分析探究肝纤维化高危亚组lncRNA NEAT1、miRNA-182-5p表达水平的相关性，采用多因素有序Logistic回归分析探究肝纤维化风险的影响因素。以P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 T2DM合并非MAFLD组、T2DM合并MAFLD组、健康对照组一般资料及实验室检测指标比较 3组研究对象年龄、BMI、NC、WC、VFA、SFA、FPG、HbA_{1c}、HOMA-IR、PLT、ALT、AST、Alb、TG、TC、SUA、lncRNA NEAT1、miRNA-182-5p比较，差异有统计学意义（P<0.05）。组间比较结果显示，健康对照组年龄、NC、FPG、HbA_{1c}低于T2DM合并MAFLD组、T2DM不合并MAFLD组，Alb高于T2DM合并MAFLD组、T2DM不合并MAFLD组，差异有统计学意义（P<0.05）；T2DM合并MAFLD组BMI、WC、VFA、SFA、HOMA-IR、TG、SUA、lncRNA NEAT1高于健康对照组、T2DM不合并MAFLD组，PLT低于健康对照组、T2DM不合并MAFLD组，TC低于健康对照组，差异有统计学意义（P<0.05）；T2DM不合并MAFLD组HOMA-IR、lncRNA NEAT1高于健康对照组，miRNA-182-5p高于健康对照组、T2DM合并MAFLD组，ALT、AST低于健康对照组、T2DM合并MAFLD组，差异有统计学意义（P<0.05）。3组研究对象性别、T2DM病程、有吸烟史、饮酒史比例比较，差异无统计学意义。见表2。

2.2 肝纤维化低危亚组、肝纤维化中危亚组、肝纤维化高危亚组一般资料及实验室检测指标比较 3组研究对象性别、BMI、NC、WC、VFA、SFA、PLT、AST、TC、lncRNA NEAT1、miRNA-182-5p比较，差异有统计学意义（P<0.05）。组内比较结果显示，肝纤维化低危亚组VFA、SFA、AST、lncRNA NEAT1低于肝纤维化中危亚组、肝纤维化高危亚组，PLT、miRNA-182-5p高于肝纤维化中危亚组、肝纤维化高危亚组，BMI、WC、NC低于肝纤维化高危亚组，TC高于肝纤维化高危亚组，差异有统计学意义（P<0.05）；肝纤维化中危亚组PLT、miRNA-182-5p高于肝纤维化高危亚组，AST、lncRNA NEAT1低于肝纤维化高危亚组，差异有统计学意义（P<0.05）。3组患者年龄、T2DM病程、吸烟史、饮酒史、FPG、HbA_{1c}、HOMA-IR、ALT、Alb、TG、SUA比较，差异无统计学意义（P>0.05），见表3。

2.3 肝纤维化高危亚组患者lncRNA NEAT1、miRNA-182-5p的相关性分析 Spearman秩相关分析结果显示，肝纤维化高危亚组患者lncRNA NEAT1与miRNA-182-5p呈明显负相关（r_s=-0.438，P<0.05）。

2.4 肝纤维化风险影响因素的多因素有序Logistic回归分析 以T2DM合并MAFLD患者肝纤维化危险程度为因变量（赋值：1=肝纤维化低危亚组，2=肝纤维化中危亚组，3=肝纤维化高危亚组），以性别（赋值：1=男，2=女）、lncRNA NEAT1、miR-182-5p、BMI、NC、WC、VFA、SFA、AST、PLT、TC（赋值均为实测值）为自变量进行多因素有序Logistic回归分析，结果显示lncRNA NEAT1、VFA、miRNA-182-5p、PLT、AST是T2DM合并MAFLD患者肝纤维化风险的影响因素（P<0.05），见表4。

3 讨论

随着国民饮食结构的改变，肥胖、糖尿病、脂肪肝等慢性疾病的发病率与日俱增，已成为全球关注的卫生问题。目前MAFLD已经取代慢性肝炎成为全球最常见的慢性肝脏疾病[12]，最被人们所接受并承认的发病机制是多重打击学说，即不良的饮食习惯、不佳的生活方式以及环境和遗传等因素导致了IR、肥胖，代谢紊乱、氧化应激、线粒体功能障碍，它们共同作用导致了肝细胞损伤和纤维化，甚至可以进展为肝硬化。所以早期监测、识别肝纤维化危险程度对患者预后具有重要作用。目前肝纤维化的诊断金标准仍然是肝穿刺，但因其有创及并发症常见，故国际上多采用FIB-4评估肝脏纤维化程度[11]。

本研究发现T2DM合并MAFLD组患者BMI、WC、VFA、SFA、TG显著升高，提示T2DM合并MAFLD组患者的脂肪蓄积、代谢异常更为严重，认为体质量增加及腹型肥胖可能增加单纯T2DM人群患MAFLD的风险。在T2DM合并MAFLD中发现与肝纤维化低危亚组相比，肝纤维化高危亚组患者AST、VFA、SFA、BMI、NC、WC显著升高，同时多因素有序Logistic回归分析发现，

表 2 T2DM 合并非 MAFLD 组、T2DM 合并 MAFLD 组、健康对照组一般资料及实验室检测指标比较

Table 2 Comparison of general data and laboratory indicators among the healthy control group， T2DM with non-MAFLD group and T2DM with MAFLD group

组别	例数	性别（男/女）	年龄〔M（P_{25}，P_{75}），岁〕	T2DM 病程〔M（P_{25}，P_{75}），月〕	吸烟史〔例（%）〕	饮酒史〔例（%）〕	BMI〔M（P_{25}，P_{75}），kg/m^2〕	NC〔M（P_{25}，P_{75}），cm〕	WC〔M（P_{25}，P_{75}），cm〕
健康对照组	49	21/28	40.0（28.5，52.5）		17（34.7）	9（18.4）	24.3±3.4	36.0（34.5，38.0）	93.0±8.9
T2DM 合并 MAFLD 组	154	94/60	58.0（50.0，66.0）[a]	89.0（7.8，160.3）	60（39.0）	51(33.1）	26.4±3.7[ab]	39.0（37.0，42.0）[a]	96.7±8.9[ab]
T2DM 合并非 MAFLD 组	82	48/34	57.0（46.0，66.0）[a]	116.5（24.8，154.8）	35（42.7）	28(34.1）	24.3±2.9	38.0（35.5，41.0）[a]	91.1±10.1
检验统计量值		5.104[c]	40.638	-1.290[d]	0.837[c]	4.365[c]	12.904[e]	28.032	10.482[e]
P 值		0.078	<0.001	0.197	0.658	0.113	<0.001	<0.001	<0.001

组别	VFA〔M（P_{25}，P_{75}），cm^2〕	SFA〔M（P_{25}，P_{75}），cm^2〕	FPG〔M（P_{25}，P_{75}），mmol/L〕	HbA_{1c}（%）	HOMA-IR〔M（P_{25}，P_{75}）〕	PLT〔M（P_{25}，P_{75}），×109/L〕	ALT〔M（P_{25}，P_{75}），U/L〕
健康对照组	86.45±29.22	157.00（118.50，200.15）	5.00（4.65，5.20）	4.80±0.54	2.44（2.29，2.58）	266.00（212.00，302.50）	19.0（11.5，33.5）
T2DM 合并 MAFLD 组	125.72±38.31[ab]	207.05（167.70，245.10）[ab]	9.00（7.40，12.10）[a]	9.62±1.72[a]	3.14（2.59，4.02）[ab]	205.00（177.25，252.50）[ab]	20.0（14.0，31.0）[b]
T2DM 合并非 MAFLD 组	89.99±33.93	168.68（138.25，206.80）	8.90（7.10，11.23）[a]	9.61±2.50[a]	2.80（2.32，3.41）[a]	229.00（197.75，290.25）	15.0（11.0，22.0）[a]
检验统计量值	38.326[e]	39.180	102.371	157.952[e]	41.762	20.330	15.774
P 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

组别	AST〔M（P_{25}，P_{75}），U/L〕	Alb〔M（P_{25}，P_{75}），g/L〕	TG〔M（P_{25}，P_{75}），mmol/L〕	TC〔M（P_{25}，P_{75}），mmol/L〕	SUA（mmol/L）	lncRNA NEAT1	miRNA-182-5p
健康对照组	22.0（18.5，28.0）	46.30（44.65，46.30）	1.31（1.06，1.71）	4.92（4.24，5.70）	293.73±90.11	1.32（0.61，2.14）	1.00（0.64，1.92）
T2DM 合并 MAFLD 组	23.0（18.0，31.0）[b]	43.00（39.90，45.20）[a]	1.97（1.47，3.10）[ab]	4.42（3.65，5.09）[a]	344.59±111.56[ab]	2.80（2.04，4.36）[ab]	1.09（0.66，1.55）[b]
T2DM 合并非 MAFLD 组	16.0（13.0，21.0）[a]	41.25（38.10，45.03）[a]	1.46（1.20，2.14）	4.72（3.95，5.65）	307.72±89.07	1.99（1.31，3.08）[a]	1.60（0.79，2.71）[a]
检验统计量值	47.448	50.187	32.457	9.966	6.312[e]	45.806	13.203
P 值	<0.001	<0.001	<0.001	0.007	0.002	<0.001	<0.001

注：T2DM=2 型糖尿病，MAFLD= 代谢相关脂肪性肝病，NC= 颈围，WC= 腰围，VFA= 内脏脂肪面积，SFA= 皮下脂肪面积，FPG= 空腹血糖，HbA_{1c}= 糖化血红蛋白，HOMA-IR= 稳态模型评估胰岛素抵抗指数，PLT= 血小板计数，ALT= 丙氨酸氨基转移酶，AST= 天冬氨酸基转移酶，Alb= 白蛋白，TG= 三酰甘油，TC= 总胆固醇，SUA= 血尿酸；[a] 表示与健康对照组比较 P<0.05，[b] 表示与 T2DM 不合并 MAFLD 组比较 P<0.05，[c] 为 χ^2 值，[d] 为 Z 值，[e] 为 F 值，余检验统计量值为 H 值。

VFA 是肝纤维化风险的影响因素，VFA 水平越高，发生肝纤维化的风险越高。YU 等[12]发现 VFA 的增加与非酒精性脂肪型肝炎及肝纤维化独立相关，提示 VFA 可能是 MAFLD 患者生活方式改变的中心目标。内脏脂肪组织（VAT）导致的病理变化的可能机制是：VFA 与其独特的生理位置以及酯酶活性增强有关，从而使血液中游离脂肪酸（FFA）显著升高，并通过门脉系统直接进入肝脏，高浓度的 FFA 储存在肝脏脂肪细胞，最终导致 IR 和糖脂代谢紊乱的加重，其次 VAT 蓄积导致肝脏脂肪变性，并可能通过脂质重配、线粒体失调、产生活性氧、脂质过氧化、内质网应激等病理生理机制引发炎症，最终由 NASH 进展为肝纤维化[13-14]。另外一项国外的队列研究中发现，NC 与血糖异常和代谢综合征标志物相关，且 NC 可以在识别糖尿病前期或糖尿病患者中发挥作用，可预测 MAFLD 的发生风险，但本研究结果不支持 NC 与肝纤维化之间的关联[15]。本研究多因素有序 Logistic 回归分析结果表明，NC 不是肝纤维化风险的影响因素，与既往研究一致。本研究还发现 PLT 下降是发生肝纤维化的独立危险因素，韩孟冉等[16]研究发现，肝纤维化患者 PLT/ 白细胞计数显著下降，并且 PLT/ 白细胞计数是预测肝纤维化的独立危险因素，本研究结果与之一致。LIU 等[17]认为，肝脏可以产生血小板生成素（thrombopoietin，TPO），在 MAFLD 病理过程中，线粒体功能发生损害，可以影响 TPO 合成，从而导致 PLT 降低。此外，国外学者认为 IR 本身不引起 PLT 降低，但是当 MAFLD 存在时，IR 可能会引发 PLT 降低，同时发现 PLT 的降低程度与肝组织的脂肪浸润程度有关[18]，本研究结果与之一致。

研究显示 lncRNA NEAT1 在脂肪代谢中起着重要调控作用[19]。lncRNA NEAT1 在 MAFLD 大鼠肝脏组织中呈高度表达，且 lncRNA NEAT1 下调后可以通过哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 mTOR 及其下游调控蛋白核糖体 S6 蛋白激酶（s6k1）信号通路来调节脂质合成缓解 MAFLD[20]。还有研究发现 miRNA-140 和 lncRNA NEAT1 两者相互作用可增强 lncRNA NEAT1 的表达以及稳定性，SUN 等[21]发现 lncRNA NEAT1 可以与

表 3 肝纤维化低危亚组、肝纤维化中危亚组、肝纤维化高危亚组一般资料及实验室检测指标比较

Table 3 Comparison of general information and laboratory indicators among the low-risk subgroup，medium-risk subgroup and high-risk subgroup of liver fibrosis

指标	组别	性别（男/女）	年龄〔M（P_{25}，P_{75}），岁〕	T2DM 病程〔M（P_{25}，P_{75}），月〕	吸烟史〔例(%)〕	饮酒史〔例(%)〕	BMI〔M（P_{25}，P_{75}），kg/m^2〕	NC〔M（P_{25}，P_{75}），cm〕	WC〔M（P_{25}，P_{75}），cm〕	VFA〔M（P_{25}，P_{75}），cm^2〕
肝纤维化低危亚组	55	27/28	61.0（40.0，69.0）	96.0（5.0，144.0）	23(41.8)	17(30.9)	25.4±4.8	38.0（36.0，40.0）	94.1±9.5	112.74±41.31
肝纤维化中危亚组	69	47/22	57.0（50.5，62.0）	85.0（10.5，189.0）	25(36.2)	23(33.3)	26.6±2.8	39.0（37.0，43.0）	97.0±8.2	129.74±36.44[a]
肝纤维化高危亚组	30	20/10	63.0（51.0，68.3）	77.5（4.5，153.0）	12(40.0)	11(36.7)	27.8±2.7[a]	40.0（39.0，42.0）[a]	100.6±7.7[a]	140.26±29.63[a]
检验统计量值		7.761[c]	4.991	0.167	0.419[c]	0.293[c]	4.372[d]	7.913	5.639	6.074[d]
P 值		0.021	0.082	0.920	0.811	0.864	0.014	0.019	0.004	0.003

组别	SFA〔M（P_{25}，P_{75}），cm^2〕	FPG〔M（P_{25}，P_{75}），mmol/L〕	HbA_{1c}（%）	HOMA-IR〔M（P_{25}，P_{75}）〕	PLT〔M（P_{25}，P_{75}），×109/L〕	ALT〔M（P_{25}，P_{75}），U/L〕
肝纤维化低危亚组	181.00（153.00，222.00）	9.60（7.30，12.10）	9.20（8.10，10.50）	2.93（2.59，3.75）	259.00（235.00，303.00）	22.0（17.0，33.0）
肝纤维化中危亚组	212.80（175.50，248.00）[a]	8.90（7.45，11.25）	9.90（8.40，11.00）	3.23（2.51，4.35）	198.00（181.00，219.00）[ab]	19.0（14.0，26.5）
肝纤维化高危亚组	234.50（209.33，266.48）[a]	10.60（7.38，13.93）	9.10（7.90，11.23）	3.25（2.69，4.02）	155.50（137.00，176.00）[a]	15.0（14.0，36.0）
检验统计量值	18.572	1.724	2.892	4.470	84.95	5.293
P 值	<0.001	0.422	0.236	0.107	<0.001	0.074

组别	AST〔M（P_{25}，P_{75}），U/L〕	Alb〔M（P_{25}，P_{75}），g/L〕	TG〔M（P_{25}，P_{75}），mmol/L〕	TC〔M（P_{25}，P_{75}），mmol/L〕	SUA（mmol/L）	lncRNA NEAT1	miRNA-182-5p
肝纤维化低危亚组	20.0（16.0，24.0）	44.10（39.70，45.80）	2.03（1.66，3.39）	4.73（4.05，5.16）	337.98±106.24	2.25（1.96，2.64）	1.55（1.51，1.80）
肝纤维化中危亚组	23.0（18.5，30.5）[ab]	42.90（40.20，44.05）	1.82（1.37，2.72）	4.42（3.66，5.09）	340.91±111.06	3.11（1.84，4.34）[ab]	0.83（0.68，1.13）[ab]
肝纤维化高危亚组	32.5（24.8，48.0）[a]	42.50（40.48，45.73）	1.99（1.40，3.13）	3.80（2.73，4.83）[a]	366.17±123.17	4.82（3.88，6.71）[a]	0.40（0.34，0.60）[a]
检验统计量值	31.689	2.366	3.254	8.107	0.641[d]	42.694	76.519
P 值	<0.001	0.306	0.197	0.017	0.528	<0.001	<0.001

注：[a] 表示与肝纤维化低危亚组比较 $P<0.05$，[b] 表示与肝纤维化高危亚组比较 $P<0.05$，[c] 为 χ^2 值，[d] 为 F 值，余检验统计量值为 H 值。

表 4 肝纤维化风险影响因素的多因素有序 Logistic 回归分析结果

Table 4 Multilevel ordinal logistic regression analysis of risk factors for liver fibrosis

变量	B	SE	P 值	OR 值	95%CI
性别	0.091	0.378	0.812	1.095	（0.522，2.298）
lncRNA NEAT1	0.282	0.101	0.005	1.326	（1.087，1.616）
miRNA-182-5p	-2.488	0.576	<0.001	0.083	（0.027，0.257）
VFA	0.019	0.007	0.005	1.019	（1.006，1.033）
PLT	-0.045	0.008	<0.001	0.956	（0.942，0.970）
AST	0.047	0.013	<0.001	1.048	（1.022，1.075）
BMI	0.084	0.055	0.127	1.088	（0.976，1.212）
SFA	0.005	0.003	0.136	1.005	（0.999，1.011）
NC	0.041	0.043	0.343	1.042	（0.957，1.134）
WC	0.035	0.024	0.146	1.036	（0.988，1.084）
TC	-0.175	0.148	0.237	0.839	（0.628，1.122）

miRNA-140 竞争性结合，并通过调节腺苷酸激活蛋白激酶/固醇调节元件结合蛋白（AMPK/SREBP-1）信号通路影响 MAFLD 的进展，同时 lncRNA NEAT1 也可以通过靶向调控 Rho 相关卷曲螺旋形成蛋白激酶 1（ROCK1）的 miRNA-146a-5p 并进一步影响 AMPK/SREBP 通路，最终增加脂肪变性，加重 MAFLD 的进展[22]。

本研究发现，T2DM 合并 MAFLD 患者外周血中 lncRNA NEAT1 的表达显著升高，且相较于肝纤维化低危亚组与中危亚组患者，肝纤维化高危亚组 lncRNA NEAT1 表达明显升高，多因素有序 Logistic 回归分析发现 lncRNA NEAT1 是发生肝纤维化的危险因素。有学者通过体外实验证实 lncRNA NEAT1 可通过与 miRNA-506 竞争性结合胶质瘤相关肿瘤基因同源 3（GLI3）来调节肝纤维化、炎症反应及脂质代谢[23]。故本研究认为外周血中 lncRNA NEAT1 的相对表达量与进展肝纤维化有一定关系。

近年来学者认为 miRNA 在糖脂的代谢疾病中起重要作用，其中 miRNA-182-5p 已被证实可以影响 IR 及脂质代谢[24]。本研究发现，T2DM 不合并 MAFLD 组患者 miRNA-182-5p 显著高于 T2DM 合并 MAFLD 组，这与 WEALE 等[25]的研究一致，该研究纳入了 1270 名受试者，发现 T2DM 及糖尿病前期的患者中 miRNA-182-5p 显著升高。而 KAROLINA 等[26]发现 miRNA-182-5p 在 T2DM 中表达下调，在空腹血糖受损的受试者中表达轻微上调，认为 miRNA-182-5p 通过靶向调控叉头盒蛋白 O1（FOXO1）来促进葡萄糖生成，在介导肝脏 IR 信号传导效应中发挥关键作用。本研究通过分析肝纤维化低危亚组、中危亚组、高危亚组 miRNA-182-5p 的表达情况，发现肝纤维化高危亚组 miRNA-182-5p 显著下降。有学者发现 miRNA-182-5p 在肥胖大鼠和人类的内脏脂肪组织中显著降低，认为其是脂肪形成的新

型负调节剂[27]。日本血吸虫诱导的肝纤维化的相关研究中发现 miRNA-182 呈高表达，FOXO1 低表达，两者可促进肝纤维化细胞的增殖和抑制细胞凋亡[28-29]。但 miRNA-182 与 T2DM 合并 MAFLD 患者发生肝纤维化风险的关系仍需进一步探究。

研究发现，用脂多糖（LPS）诱导急性肺损伤小鼠和细胞模型中 lncRNA NEAT1 水平升高，且 lncRNA NEAT1 可以通过与 miRNA-182-5p 结合调控 WNT1 诱导信号通路蛋白 1（WISP1）的表达，lncRNA NEAT1 过表达，可以通过 miRNA-182-5p/WISP1 轴抑制 LPS 暴露的肺泡巨噬细胞的活力，进而促进细胞凋亡和炎症[30]，而 LncRNA NEAT1 与 miRNA-182-5p 在肝纤维化中的关系尚不清楚。本研究 Spearman 秩相关分析结果发现在肝纤维化高危亚组患者中 lncRNA NEAT1 与 miRNA-182-5p 呈负相关，因未进行动物细胞实验，故初步认为 LncRNA NEAT1、miRNA-182-5p 在 T2DM 合并 MAFLD 肝纤维化的发生和发展中起一定作用，但具体机制仍需进一步验证。

本研究存在以下局限性：许多降糖药对 MAFLD 及肝纤维化有一定作用，影响复杂，分析较为困难，故本研究未分析降糖药物对疾病的影响；此外，本研究采用 FIB-4 是评估研究对象的肝纤维化情况，未经病理验证，故可能存在误差。

综上所述，lncRNA NEAT1 及 miRNA-182-5p 可能在 T2DM 合并 MAFLD 患者及肝纤维化患者中起重要作用，提示高 lncRNA NEAT1、高 VFA、低 miRNA-182-5p、低 PLT 可能是患者肝纤维化风险的独立危险因素。本研究为进一步明确外周血中 lncRNA NEAT1、miRNA-182-5p 对肝纤维化的作用机制提供了新的思路，同时为 T2DM 合并 MAFLD 患者发生肝纤维化的预防提供了新的方向。

作者贡献：贺佳、魏枫负责研究的构思及设计，贺佳、李永平负责研究的实施，论文的撰写及修订；刘美岚、吴亚玲、韶龙格负责数据的收集及整理；贺佳、刘美岚负责统计学处理及绘制图表；魏枫负责文章的质量把控，对文章整体负责，监督管理。

本文无利益冲突。

参考文献

[1] JAVEED N，MATVEYENKO A V. Circadian etiology of type 2 diabetes mellitus［J］. Physiology，2018，33（2）：138-150. DOI：10.1152/physiol.00003.2018.

[2] OGURTSOVA K，DA ROCHA FERNANDES J D，HUANG Y，et al. IDF Diabetes Atlas：global estimates for the prevalence of diabetes for 2015 and 2040［J］. Diabetes Res Clin Pract，2017，128：40-50. DOI：10.1016/j.diabres.2017.03.024.

[3] ESLAM M，NEWSOME P N，SARIN S K，et al. A new definition for metabolic dysfunction-associated fatty liver disease：an international expert consensus statement［J］. J Hepatol，2020，73（1）：202-209. DOI：10.1016/j.jhep.2020.03.039.

[4] KUMAR S，DUAN Q H，WU R X，et al. Pathophysiological communication between hepatocytes and non-parenchymal cells in liver injury from NAFLD to liver fibrosis［J］. Adv Drug Deliv Rev，2021，176：113869. DOI：10.1016/j.addr.2021.113869.

[5] MA L N，BAJIC V B，ZHANG Z. On the classification of long non-coding RNAs［J］. RNA Biol，2013，10（6）：925-933. DOI：10.4161/rna.24604.

[6] 崔雪玲 . lncRNA NEAT1 在 PM2.5 暴露对小鼠血糖影响中的作用研究［D］. 石家庄：河北医科大学，2020.

[7] GUTTILLA I K，WHITE B A. Coordinate regulation of FOXO1 by miR-27a，miR-96，and miR-182 in breast cancer cells［J］. J Biol Chem，2009，284（35）：23204-23216. DOI：10.1074/jbc.m109.031427.

[8] 中华医学会糖尿病分会 . 中国 2 型糖尿病防治指南（2020 年版）（上）［J］. 中国实用内科杂志，2021，41（8）：668-695. DOI：10.19538/j.nk2021080106.

[9] 中华医学会糖尿病分会 . 中国 2 型糖尿病防治指南（2020 年版）（下）［J］. 中国实用内科杂志，2021，41（9）：757-784. DOI：10.19538/j.nk2021090106.

[10] 王琦，林珍，周艳辉，等 . 吸烟对射血分数保留的心力衰竭患者不良事件的影响研究［J］. 中国全科医学，2020，23（2）：161-165. DOI：10.12114/j.issn.1007-9572.2019.00.595.

[11] GRAUPERA I，THIELE M，SERRA-BURRIEL M，et al. Low accuracy of FIB-4 and NAFLD fibrosis scores for screening for liver fibrosis in the population［J］. Clin Gastroenterol Hepatol，2022，20（11）：2567-2576.e6. DOI：10.1016/j.cgh.2021.12.034.

[12] YU S J，KIM W，KIM D，et al. Visceral obesity predicts significant fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease［J］. Medicine，2015，94（48）：e2159. DOI：10.1097/MD.0000000000002159.

[13] BERGMAN R N，KIM S P，CATALANO K J，et al. Why visceral fat is bad：mechanisms of the metabolic syndrome［J］. Obesity，2006，14（Suppl 1）：16S-19S. DOI：10.1038/oby.2006.277.

[14] LAFONTAN M，BERLAN M. Do regional differences in adipocyte biology provide new pathophysiological insights?［J］. Trends Pharmacol Sci，2003，24（6）：276-283. DOI：10.1016/S0165-6147（03）00132-9.

[15] FOJAS E G F，BUCKLEY A J，LESSAN N. Associations between neck circumference and markers of dysglycemia，non-alcoholic fatty liver disease，and dysmetabolism independent of Body Mass Index in an Emirati population［J］. Front Endocrinol，2022，13：929724. DOI：10.3389/fendo.2022.929724.

[16] 韩孟冉，张晨钰，杜岑，等 . 血小板 / 白细胞比值与 2 型糖尿病合并非酒精性脂肪性肝病患者肝纤维化进展的相关性［J］. 中国医科大学学报，2022，51（6）：492-496，507. DOI：10.12007/j.issn.0258-4646.2022.06.003.

[17] LIU F，ZHOU H，CAO L，et al. Risk of reduced platelet counts in patients with nonalcoholic fatty liver disease（NAFLD）：a prospective cohort study［J］. Lipds Heath Dis，2018，17（1）：1-7. DOI：10.1186/s12944-018-0865-7.

[18] LÓPEZ-TRUJILLO M A，OLIVARES-GAZCA J M，

CANTERO-FORTIZ Y，et al. Nonalcoholic fatty liver disease and thrombocytopenia III：its association with insulin resistance［J］. Clin Appl Thromb Hemost，2019，25：1076029619888694. DOI：10.1177/1076029619888694.

［19］BOND C S，FOX A H. Paraspeckles：nuclear bodies built on long noncoding RNA［J］. J Cell Biol，2009，186（5）：637-644. DOI：10.1083/jcb.200906113.

［20］WANG X. Down-regulation of lncRNA-NEAT1 alleviated the non-alcoholic fatty liver disease via mTOR/S6K1 signaling pathway［J］. J Cell Biochem，2018，119（2）：1567-1574. DOI：10.1002/jcb.26317.

［21］SUN Y F，SONG Y，LIU C S，et al. LncRNA NEAT1-MicroRNA-140 axis exacerbates nonalcoholic fatty liver through interrupting AMPK/SREBP-1 signaling［J］. Biochem Biophys Res Commun，2019，516（2）：584-590. DOI：10.1016/j.bbrc.2019.06.104.

［22］CHEN X，TAN X R，LI S J，et al. LncRNA NEAT1 promotes hepatic lipid accumulation via regulating miR-146a-5p/ROCK1 in nonalcoholic fatty liver disease［J］. Life Sci，2019，235：116829. DOI：10.1016/j.lfs.2019.116829.

［23］JIN S S，LIN X F，ZHENG J Z，et al. lncRNA NEAT1 regulates fibrosis and inflammatory response induced by nonalcoholic fatty liver by regulating miR-506/GLI3［J］. Eur Cytokine Netw，2019，30（3）：98-106. DOI：10.1684/ecn.2019.0432.

［24］CHANDEL R，SAXENA R，DAS A，et al. Association of rno-miR-183-96-182 cluster with diethyinitrosamine induced liver fibrosis in Wistar rats［J］. J Cell Biochem，2018，119（5）：4072-4084. DOI：10.1002/jcb.26583.

［25］WEALE C J，MATSHAZI D M，DAVIDS S F G，et al. Circulating miR-30a-5p and miR-182-5p in prediabetes and screen-detected diabetes mellitus［J］. Diabetes Metab Syndr Obes，2020，13：5037-5047. DOI：10.2147/DMSO.S286081.

［26］KAROLINA D S，ARMUGAM A，TAVINTHARAN S，et al. microRNA 144 impairs insulin signaling by inhibiting the expression of insulin receptor substrate 1 in type 2 diabetes mellitus［J］. PLoS One，2011，6（8）：e22839. DOI：10.1371/journal.pone.0022839.

［27］DONG M J，YE Y Q，CHEN Z N，et al. microRNA 182 is a novel negative regulator of adipogenesis by targeting CCAAT/enhancer-binding protein A［J］. Obesity，2020，28（8）：1467-1476. DOI：10.1002/oby.22863.

［28］VAN KEUREN-JENSEN K R，MALENICA I，COURTRIGHT A L，et al. microRNA changes in liver tissue associated with fibrosis progression in patients with hepatitis C［J］. Liver Int，2016，36（3）：334-343. DOI：10.1111/liv.12919.

［29］HUANG Y，FAN X X，TAO R，et al. Effect of miR-182 on hepatic fibrosis induced by Schistosomiasis japonica by targeting FOXO1 through PI3K/AKT signaling pathway［J］. J Cell Physiol，2018，233（10）：6693-6704. DOI：10.1002/jcp.26469.

［30］LYU S S，QU X L，QU Y，et al. LncRNA NEAT1 knockdown alleviates lipopolysaccharide-induced acute lung injury by modulation of miR-182-5p/WISP1 axis［J］. Biochem Genet，2021，59（6）：1631-1647. DOI：10.1007/s10528-021-10081-8.

（收稿日期：2023-04-10；修回日期：2023-07-15）
（本文编辑：邹琳）